

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 575.224.23

С.А. ПОДБЕРЕЗКО

магистр биологических наук
соискатель кафедры общей биологии и ботаники
преподаватель кафедры морфологии и физиологии человека и животных
Белорусский государственный педагогический университет
имени М. Танка, г. Минск, Республика Беларусь
E-mail: sergeyp382@gmail.com

С.Б. МЕЛЬНОВ, доктор биол. наук

профессор кафедры экологической медицины и радиобиологии
Международный государственный экологический институт имени
А.Д. Сахарова Белорусского государственного университета,
г. Минск, Республика Беларусь
E-mail: sbmelnov@gmail.com

Статья поступила 15 сентября 2020 г.

ОЦЕНКА УРОВНЯ ГЕНОТОКСИЧНОСТИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ С ПОМОЩЬЮ МИКРОЯДЕРНОГО ТЕСТА НА ЭРИТРОЦИТАХ АМФИБИЙ

В статье с применением микроядерного теста (МТ) на эритроцитах периферической крови, как показателя суммарного мутационного давления, исследуется цитогенетический статус амфибий из водоемов с разной антропогенной нагрузкой. В ходе проведенных исследований выявлены все основные типы микроядер (МЯ) крови амфибий. Полученные данные свидетельствуют о превышении уровня микроядер типа «б» в популяции амфибий хозяйственного водоема г.Руденск ($5,81 \pm 1,25\%$), в сравнении с условно-чистым водоемом АБС «Зеленое» ($0,66 \pm 3,98\%$) в 11,3 раза ($p < 0,05$). Наличие микроядер типа «в» в хозяйственном водоеме превышено практически в 10 раз ($10,66 \pm 0,81\%$ - Руденск, $0,01 \pm 28,86\%$ - АБС «Зеленое», $p < 0,05$). Одновременное присутствие этих типов микроядер свидетельствует о постоянном стресс-воздействии на гидробионты, resultирующим в нарастание частоты хромосомных aberrаций и нарушение веретена деления.

Ключевые слова: антропогенное давление, микроядерный тест, цитогенетический статус, амфибии, биоиндикация.

PODBEREZKO S.

Master of Biology
Applicant at the Department of General Biology and Botany
Lecturer at the Department of Morphology and Physiology of Human and Animals
Belarusian State Pedagogical University named after Maxim Tank, Minsk, Republic of Belarus
E-mail: sergeyp382@gmail.com

MELNOV S., Doctor of Biol. Sc.

Professor at the Department of Environmental Medicine and Radiobiology
International State Ecological Institute named after A.D. Sakharov Belarusian State University,
Minsk, Republic of Belarus
E-mail: sbmelnov@gmail.com

EVALUATION OF THE ENVIRONMENTAL GENOTOXICITY LEVEL WITH MICRONUCLEAR TEST IN AMPHIBIUM ERYTHROCYTES

The article using the micronuclear test (MT) of peripheral blood erythrocytes examines the cytogenetic status of amphibians from water bodies with different anthropogenic load. The main types of amphibian blood micronuclei (MN) were revealed. The obtained data showed the excess of levels of type «b» nuclei in the amphibian population of the economic reservoir of the city of Rudensk ($5.81 \pm 1.25\%$), in comparison with the conditionally pure reservoir ABS «Zelenoe» ($0.66 \pm 3.98\%$) in 11.3 times ($p < 0.05$). The presence of micronuclei of type «b» in the body of water was exceeded by almost 10 times ($10.66 \pm 0.81\%$ - Rudensk, $0.01 \pm 28.86\%$ - ABS «Green», $p < 0.05$). Presence of two of these types of micronuclei indicates a constant stress effect on hydrobionts, resulting in the frequency of chromosome aberrations and violations of the spindle division increases.

Keywords: anthropogenic pressure, micronucleus test, cytogenetic status, amphibians, bioindication.

Введение. На современном этапе интенсивного развития нашего постиндустриального общества наблюдается постоянное ухудшение экологической ситуации, которое трансформируется под воздействием различного рода поллютантов в постоянно действующую мутагенную компоненту. Как следствие, возникает острая необходимость анализа, прогнозирования и учета удельного вклада этой компоненты в общее антропогенное давление на человека и биоту. На сегодняшний день для оценки влияния загрязнителей разного генезиса в воде, почве и воздухе разработан ряд физико-химических методов, которые нормативно утверждены и позволяют оценить роль ряда отдельных факторов в отношении состояния среды. В тоже время, часто наблюдаемый синергизм такого рода факторов, когда небольшие дозы поллютантов взаимоусиливают воздействие друг друга и в результате приводят к более тяжелым последствиям, настоятельно требует внедрение комплексной оценки воздействия средовых факторов. Именно в этом случае биоиндикация, основанная на оценке эффектов на уровне целостного организма, незаменима, так как дает интегральную оценку качества среды, учитывающую не только аддитивный возможный эффект такого рода факторов, но и все возможные механизмы их взаимодействия в конкретных условиях.

Наиболее восприимчивы к тем или иным изменениям среды так называемые индикаторные виды. Эти виды животных или растений, которые в силу своих особенностей (как поведенческих, так и просто биологических), особо чувствительны к определенным факто-

рам и четко реагируют на их изменения [1, с. 50]. Для определения силы воздействия фактора и организации мониторинга состояния окружающей среды необходимо выбрать правильный и адекватно отвечающий во времени на раздражение вид-индикатор.

Таковыми видами для оценки средовой токсической нагрузки могут выступать амфибии, обитающие на стыке двух сред: наземной и водной – и очень четко отражающие изменения среды обитания на морфологическом и цитогенетическом уровнях. В силу своих отмеченных выше биологических особенностей бесхвостые амфибии могут служить для целей мониторинга генетических последствий загрязнения как водной, так и наземной среды [2, с. 315].

Rana ridibunda (Озерная лягушка) полностью соответствует требованиям, предъявляемым к видам-индикаторам. Представители этого вида обладают широким распространением в нашем регионе, что коррелирует с общедоступностью и простотой сбора материала [3, с. 127]. Они обладают выраженной сменой среды обитания в течение жизненного цикла, имеют высокую численность, особенно в нарушенных экосистемах, высокую степень оседлости, высокую жизнестойкость [4, с. 727-728], характеризуются высокой экологической пластичностью и толерантностью [5, с. 82]. Амфибии – уязвимая группа животных, они весьма чувствительны к любым изменениям, в особенности к антропогенной трансформации ландшафтов [6, с. 8]. Это чуткий биоиндикатор состояния природной среды, что позволяет использовать их в целях биологического мониторинга естественных и трансформированных экоси-

стем [7, с. 97]. По мнению А. Б. Бигалиева и соавторов, они обладают высокой чувствительностью к мутагенам и являются одним из лучших объектов при мониторинге загрязнения окружающей среды [8, с. 17-18]. Несмотря на перечисленные преимущества амфибий в роли биоиндикатора, контроль качества среды с использованием земноводных в Республике Беларусь используется крайне редко, либо вообще не используется [9, с. 46].

В норме организм в среде обитания пребывает в морфофизиологической, цитогенетической и иммунологической стабильности. Для выявления силы воздействия поллютантов на гомеостаз амфибий применяется ряд методик оценки стабильности развития в различных условиях обитания.

При определении генотоксичности среды используются преимущественно цитогенетические методы [10, с. 170], к которым относятся и МТ на эритроцитах периферической крови. Важным преимуществом МТ является то, что он обладает высокой чувствительностью и может характеризовать состояние всего генома. Его широко используют для оценки генотоксичности антропогенных факторов [11, с. 4], а также в качестве интегрального биомаркера уровня загрязнения [10, с. 173]. Фактически МТ служит маркером генотоксического стресса и генетической нестабильности [12, с. 612]. Уже доказана прямая связь между состоянием организма и цитогенетическими показателями клеток [11, с. 5]. В частности, реакцией лягушек на раздражение токсического характера проявляется в образовании МЯ в эритроцитах периферической крови [13, с. 437], а уровень цитогенетических нарушений у пойкилотермных животных выше, чем гомойотермных при одном и том же уровне воздействий [8, с.61].

МЯ возникают в результате отставания хромосом, или возникающих их фрагментов в ана-телофазе митоза [10, 14 – 19]. Сами МЯ являются доказательством достаточно грубых нарушений структуры хромосом, а также существенных нарушений в структуре центромеры или митотического аппарата деления [20, с. 51]. В то же время, МТ является простым, доступным, быстрым и информативным методом в исследовании цитогенетической стабильности развития животного.

Цель данного исследования – оценить уровень генотоксичности окружающей среды на исследуемых территориях с применением МТ на эритроцитах амфибий.

Материалы и методы. Исследования проводились в 2017-2019 гг. в водоемах Минской области. Из мест обитания было отобрано 197 особей озерной лягушки (*R. ridibunda*) обоего пола, одного возраста и размера тела. Видопринадлежность объектов для исследования определяли согласно М.М. Пикулик по стандартной методике [23, с. 47-50].

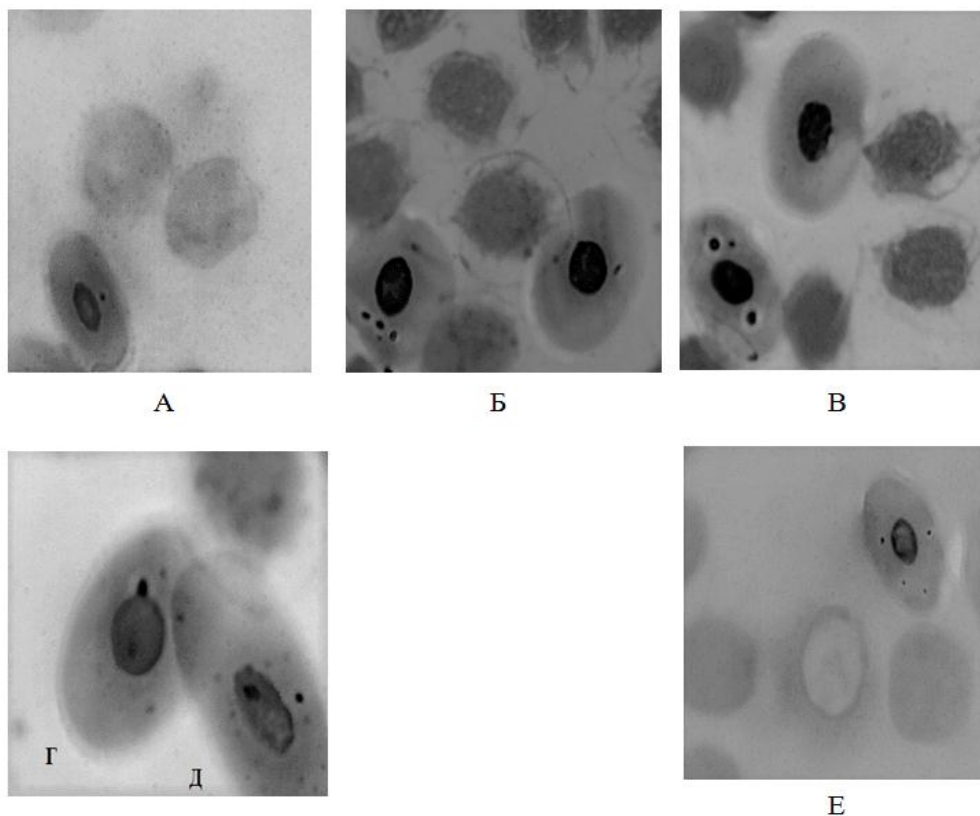
Из условно нормального по качеству среды водоема р. Поплав в районе АБС (Агробиостанция) «Зеленое» было отобрано 96 особей и 101 особь из антропогенно-измененного водоема в окрестностях г. Руденска. У лягушек был произведен забор периферической крови из бедренной вены для приготовления мазков стандартными методами [22, с. 1000]. Мазки крови окрашивались по Романовскому-Гимза [21, с. 57]. Для анализа готовилось не менее 2 препаратов от каждой особи.

Подсчет МЯ производили под микроскопом с использованием иммерсионного объектива при увеличении $\times 1000$. В каждом препарате подсчитывалось количество клеток, содержащих МЯ и неоформленный ядерный материал, в расчете на 1000 эритроцитов.

Подсчет и анализ МЯ проводился согласно [22, с. 1000-1003]. Число МЯ выражали в % к общему числу просмотренных клеток

Полученные данные, после проверки на параметричность (критерий Колмогорова-Смирнова), обрабатывали следующими статистическими методами: параметрические выборки – с использованием двустороннего t-критерия; непараметрические выборки анализировали с помощью U-критерия Уитни-Манна. За величину статистической значимости принимали $p \geq 0,05$.

Обсуждение результатов. При проведении МТ периферической крови амфибий были обнаружены следующие типы МЯ (рисунков 1): стандартные «а», прикрепленные «б», неоформленные «в», а также при анализе препаратов крови наблюдалось наличие в эритроцитах от 1 до нескольких МЯ.



А, Д – стандартное микроядро; Б – эритроцит с 3 микроядрами; В – эритроцит с 2 микроядрами;
Г – прикрепленное микроядро; Е – эритроцит с 4 микроядрами

Рисунок 1. – Типы микроядер крови амфибий

Согласно авторам, МЯ стандартного вида («а») хорошо оформлены и находятся или близко от основного ядра, или на некотором удалении от него, иногда на самой периферии клетки. МЯ, соединенное с основным ядром тонкой нитью, относится к прикрепленным («б»). Неоформленные МЯ («в») представлены в виде палочек, округлых или удлинённых клубков, плотные образования различных размеров, часто крупные [22, с. 1000].

Всего было обследовано 197072 эритроцита периферической крови лягушек. В периферической крови обследованных животных было обнаружено 54473 эритроцитов с МЯ (41123 – в основной и 13350 – в контрольной группах).

Анализ полученных данных выявил наличие трех типов МЯ. У каждой обследованной особи имелись те или иные виды МЯ. Однако при этом в основной группе и группе сравнения соотношение различных типов МЯ суще-

ственно варьировало, что графически отражено на рисунке 2.

Преобладающим типом МЯ является первый тип «а», что, согласно авторам [22], является естественным и в условно-чистой зоне водоема АБС «Зеленое» ($13,49 \pm 0,82\%$) и для хозяйственного водоема г. Руденск ($23,51 \pm 0,56\%$ от общего числа просмотренных эритроцитов). Однако наблюдается превышение их количества в сравнении с литературными данными [24, 25]. Кроме того, в антропогенно-измененной среде (г. Руденск) частота такого рода МЯ статистически достоверно превышает уровень контрольной популяции ($p > 0,05$).

Присутствие в клетках МЯ 2-х других типов («б» и «в») свидетельствует об уровне мутагенного воздействия среды на организм амфибий [22, с. 1003]. Из данных рисунка 2 очевидно увеличение доли данных типов микроядер именно в антропогенно-измененной зоне по сравнению с условно-чистой [24].

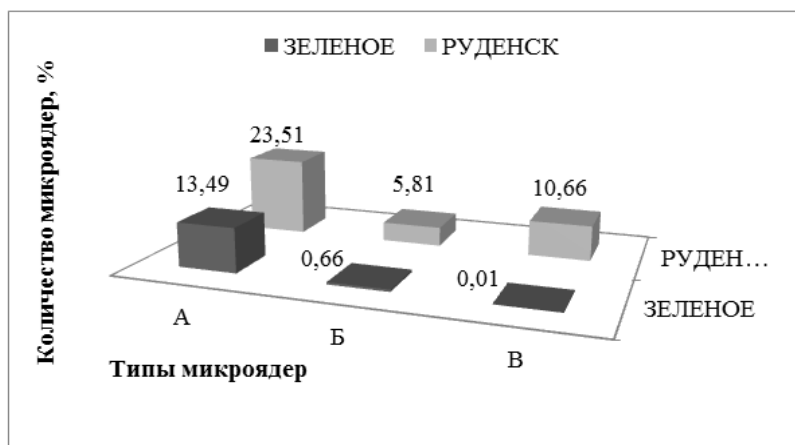


Рисунок 2. – Распределение микроядер по типам в группах сравнения

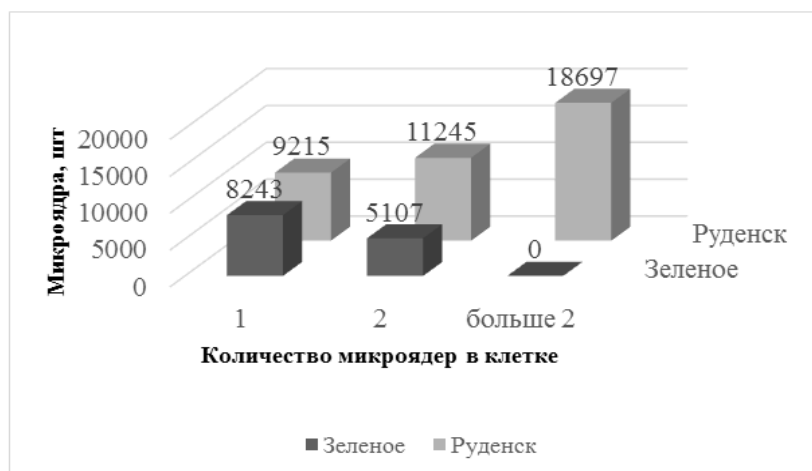


Рисунок 3. – Распределение количества микроядер в клетке в группах сравнения

На рисунке 3 мы наблюдаем увеличение эритроцитов более чем с двумя микроядрами (от 3 до 7 МЯ) в основной группе (г. Руденск), в то время как в контрольной группе (АБС «Зеленое») преобладают клетки с 1 МЯ, иногда с двумя МЯ.

Частота МЯ типа «б» составляет $0,66 \pm 3,98\%$ для АБС «Зеленое», что достоверно отличается от количества микроядер у

лягушек водоема г. Руденск ($5,81 \pm 1,25\%$), уровень МЯ превышен в 11,3 раза ($p < 0,05$). Третий тип МЯ «в» в наибольшем количестве наблюдался у особей водоема г. Руденск ($10,66 \pm 0,81\%$), частота которых превышает практически в 10 раз количество МЯ в условно-чистом водоеме – $0,01 \pm 28,86\%$ ($p < 0,05$) (табл.).

Таблица – Количество микроядер в крови озерной лягушки

Район исследования	К-во обслед. эритроцитов	Кол-во клеток с разными типами микроядер, %		
		«а»	«б»	«в»
АБС «Зеленое»	94230	$13,49 \pm 0,82$	$0,66 \pm 3,98$	$0,01 \pm 28,86$
Руденск	102842***	$23,51 \pm 0,56^*$	$5,81 \pm 1,25^{**}$	$10,66 \pm 0,81^{**}$

Примечание – *различия достоверны при $p > 0,05$; **различия достоверны при $p < 0,05$;

***основная и контрольная группы достоверны при $p > 0,05$

Заклучение. Согласно проведенному исследованию, МТ может быть использован как подтверждающий явное воздействие загрязнителей в среде обитания на цитогенетическую стабильность развития амфибий водоемов с разной антропогенной нагрузкой. Учитывая тот факт, что частота МЯ в конечном итоге оказывает влияние на изменение физиологических показателей клеточных популяций и необратимые изменения гомеостаза амфибий при обитании в водоемах с разным антропогенным давлением, полученные данные однозначно свидетельствуют о неблагоприятной экологической ситуации в зоне хозяйственного водоема. В целом, полученные нами результаты свидетельствуют о том, что амфибии могут быть использованы в качестве тест-объекта для оценки состояния среды их обитания посредством использования цитогенетических показателей эритроцитов периферической крови.

Список литературы

1. Рассадина, Е. В. Биоиндикация и ее место в системе мониторинга окружающей среды / Е. В. Рассадина // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии : научно-теоретический журнал. – Ульяновск : УГСХА. – 2007. – № 2(5). – С. 48-53.
2. Горовая А. И. Мониторинговый контроль состояния водных экосистем на основе цитогенетических методов / А. И. Горовая [и др.] // III-й Всеукраїнський з'їзд екологів з міжнародною участю (Екологія / Ecology – 2011), 21-24 вересня, 2011 : Збірник наукових статей / ВНТУ. – Вінниця : ВНТУ. – 2011. – Т. 1. – С. 314-317.
3. Природные популяции растений и животных как тест-объекты эколого-генетической оценки биоты и населения Сияп / А. Б. Бигалиев [и др.] // Вестник НЯЦ РК : периодический научно-технический журнал национального ядерного центра Республики Казахстан. – 2003. – Вып. 3. – С. 126-130.
4. Леонтьева, О. А. Земноводные как биоиндикаторы антропогенных изменений среды / О. А. Леонтьева, Д. В. Семенов // Успехи современной биологии. – 1997. – Т. 117. – Вып. 6. – С. 726-736.
5. Романова, Е. Б. Оценка качества среды водных объектов урбанизированной территории по стабильности развития амфибий / Е. Б. Романова, Е. А. Южина, М. И. Тихонова // Проблемы региональной экологии. – Москва, 2013. – № 2. – С. 82-87.
6. Мирзегасанов, А. З. Характеристика степени адаптивной устойчивости амфибий к антропогенным воздействиям в урбанизированных территориях / А. З. Мирзегасанов // Вестник социально-педагогического института: научно-теоретический журнал. – Дербент : Социально – педагогический ин-т. – 2017. – № 4 (24). – С. 7-20.
7. Мониторинг животного мира Беларуси (основные принципы и результаты) / под общ. ред Л. М. Суцени, В. П. Семенченко. – Мн.: Бел НИЦ «Экология», 2005. – 220 с.
8. Бигалиев, А. Б. Амфибии -тест-объекты эколого-генетического мониторинга в условиях Центрального Казахстана / А. Б. Бигалиев, К. Я. Атаханова, Б. Т. Айтбаева // Всесоюз. симпоз. «Объем и методы генотоксической оценки и побочных эффектов биологически активных веществ». – Л. – 1989. – С. 17-18.
9. Проблемы оценки, мониторинга и сохранения биоразнообразия : сб. материалов региональной научно-практической экологической конференции, Брест, 3 дек. 2015 г. / Брест. гос. ун-т им. А. С. Пушкина ; редкол. : Ю. В. Бондарь [и др.]. – Брест : БрГУ, 2016. – 300 с.
10. Орджоникидзе, К. Г. Способы оценки цитогенетического гомеостаза в природных популяциях животных на разных этапах онтогенеза / К. Г. Орджоникидзе, Т. Б. Демидова, Е. Ю. Крысанов // Онтогенез. – 2014. – Т. 45. – № 3. – С. 170 – 179. DOI: 10.7868/S0475145014030033
11. Даев, Е. В. Цитогенетические методы индикации экологической напряженности в водных и наземных биосистемах / Е.В. Даев, А.В.Дукельская, Л.В. Барабанова // Экологическая генетика. – 2014. – Т. 12. – № 2. – С.3-12.
12. Кисурина-Евгеньева, О. П. Биогенез микрорядер / О. П. Кисурина-Евгеньева, О. И. Сутягина, Г. Е. Онищенко // Биохимия. – 2016. – Т. 81. – Вып. 5. – С. 612 - 624.

13. Верголяс, М. Р. Токсическое влияние тяжелых металлов на организм гидробионтов / М. Р. Верголяс, В. В. Гончарук // *Journal of Education, Health and Sport*. – 2016. – №6. – С. 436-444.
14. Микроядра как маркеры хромосомных изменений клеток / И. Б. Бродский [и др.] // *Журнал фундаментальной медицины и биологии*. – Ростов-на-Дону : Ростовский гос. медицинский ун-т. – 2012. – № 1. – С. 4-9.
15. Ингель, Ф. И. Перспективы использования микроядерного теста на лимфоцитах крови человека, культивируемых в условиях цитокинетического блока. Часть первая : пролиферация клеток / Ф. И. Ингель // *Экологическая генетика*. – 2006. – Т. 4. – № 3. – С. 7-19.
16. Романова, Е. Б. Скрининговый цитогенетический метод учета микроядер в крови прудовых лягушек как индикатор состояния водных биологических ресурсов / Е. Б. Романова, Е. С. Рябинина // *Вестник Камчатского государственного технического университета*. – 2019. – № 49. – С. 43-49. DOI: 10.17217/2079-0333-2019-49-43-49
17. Fagr, Kh. All. Micronucleus test in fish genome: A sensitive monitor for aquatic pollution / Kh. All.Fagr, A. M. El-Shehawi, M. A. Seehy // *African Jurnal of Biotechnology*. – 2008. – Vol. 7 (5). – P. 606-612.
18. Normann, C. A. Micronuclei in red blood cells of armored catfish *Hypostomus plecostomus* exposed to potassium dichromate / C. A. Normann, J. C. Moreira, V. V. Cardoso // *African Jurnal of Biotechnology*. – 2008. – Vol. 7 (7). – P. 893-896.
19. Крысанов, Е. Ю. Некоторые аспекты цитогенетического мониторинга / Е. Ю. Крысанов, К. Г. Орджоникидзе // *Жизнь Земли: междисциплинарный научно-практический журнал*. – Москва : МГУ. – 2018. – Т. 40. – № 4. – С. 403-407.
20. Кузина, Т. В. Изменения структуры ядра эритроцитов периферической крови промысловых рыб Волго - Каспийского канала / Т. В. Кузина // *Вестник Московского государственного областного университета. Серия Естественные науки*. – Москва, 2011. – №2. – С. 50-57.
21. Давыдов, О. Н. Патология крови рыб: монография / О. Н. Давыдов, Ю. Д. Темниханов, Л. Я. Куровская. – Киев : Фирма «ИНКОС», 2005. – 212 с.
22. Жулева, Л. Ю. Использование микроядерного теста для оценки экологической обстановки в районах Астраханской области / Л. Ю. Жулева, Н. П. Дубинин // *Генетика*. – 1994. – Т. 30. – № 7. – С. 999-1004.
23. Пикулик, М. М. Земноводные Белоруссии / М. М. Пикулик. – Минск : Наука и техника, 1985. – 191 с.
24. Романова, Е. Б. Оценка состояния популяций зеленых лягушек рода *Rana* по комплексу показателей гомеостаза / Е. Б. Романова, О. Е. Волкова, М.И. Тихонова // *Вестник Нижегородского Университета им. Н.И. Лобачевского*. – 2011. – № 2(2). – С. 119-124.
25. Спирина, Е. В. Амфибии как биоиндикационная тест-система для экологической оценки водной среды обитания: автореф. дис. ... канд. био. наук / Е.В. Спирина. – Ульяновск, 2007. – 22 с.

References

1. Rassadina E. V. Bioindikatsiya i eye mesto v sisteme monitoringa okruzhayushchey sredy [Bioindication and its place in the environmental monitoring system]. *Vestnik Ulianovskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii : nauchno-teoreticheskiy zhurnal* [Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy: scientific and theoretical journal]. Ulianovsk, 2007, no. 2(5), pp. 48-53. (In Russian)
2. Gorovaya A. I., Skvortsova T. V., Pavlichenko A. V., Lisitskaya S. M. Monitoringovy control' sostoyaniya vodnykh ekosistem na osnove tsitogeneticheskikh metodov [Monitoring of the state of aquatic ecosystems based on cytogenetic methods]. *III-y Vseukrainskiy z'ezd ekologiv z mizhnarodnoyu uchastyu «Ekologiya»*. [III-th all-Ukrainian Congress of ecologists with international participation «Ecology»]. Vinnytsya, 2011, pp. 314-317. (In Russian)
3. Bigaliev A. B., Daribaev Zh., Bigaliev A. A., Kundakbaeva G. B., Bigaliev R. K., Isenov Kh., Bekishbekov E. Z., Atakhanova K. I. Prirodnye popylacii rastenij izhivotnykh kak test-ob`ekty ekologo-genetichskoj otsenki bioty i naselenia Siap [Natural populations plants and animals as test objects in ecologi-

- cal and genetic assessment of STS biota and population]. *Vestnik NYATS RK: periodicheskiy nauchno-tekhnicheskiy zhurnal natsional'nogo yadernogo tsentra Respubliki Kazakhstan* [NNC RK Bulletin : research and technology review national nuclear center of the Republic of Kazakhstan], 2003, no. 6, pp. 126-130. (In Russian)
4. Leont'eva O. A., Semenov D. V. Zemnovodnye kak bioindikatory antropogennykh izmeneniy sredy [Amphibians as bioindicators of anthropogenic changes in environment]. *Uspekhi sovremennoy biologii* [Advances in current biology], 1997, vol. 21, no. 6, pp. 726-737. (In Russian)
5. Romanova E. B., Yuzhina E. A., Tikhonova M. I. Otsenka kachestva sredy vodnykh ob"ektov urbanizirovannoy territorii postabil'nosti razvitiya amfibiyy [Assessment of the quality of the environment of water bodies in an urbanized area by the stability of amphibian development]. *Problemy regional'noy ekologii* [Regional environmental issues], 2013, no. 2, pp. 82-87 (In Russian)
6. Mirzagasanov A. Z. Kharakteristika stepeni adaptivnoy ystoychivosti amfibiyy k antropogennym vozdeystviyam v yrbanizirovannykh territoriakh [The characteristic of the degree of adaptive resilience of amphibians to anthropogenic influences in urban areas]. *Vestnik social'no-pedagogicheskogo instituta : nauchno-teoreticheskiy zhurnal* [Bulletin of the socio-pedagogical institute : scientific-theoretical journal], 2017, no. 4 (24), pp. 7-20. (In Russian)
7. *Monitoring zhivotnogo mira Belarusi* (osnovnye principy i rezul'taty) [Monitoring of the wildlife of Belarus (basic principles and results)]. Eds. Sushchenya L. M., Semenchenko V. P. Minsk, Bel NITs «Ekologiya» Publ., 2005, 220 p. (In Russian)
8. Bigaliev A. B., Atahanova K. YA., Ajtbaeva B. T. Amfibii test-ob"ekty ekologo-geneticheskogo monitoringa v usloviyakh Central'nogo Kazakhstana. *Vsesoyuz. simpoz. «Ob"em i metody genotoksicheskoy ocenki i pobochnykh effektov biologicheskii aktivnykh veshchestv»*. Leningrad, 1989, pp. 17-18. (In Russian)
9. *Problemy otsenki, monitoring i sokhraneniya bioraznoobraziya* [Problems of assessment, monitoring and conservation of biodiversity]. Sbornik materialov regional'noy nauchno-prakticheskoy ekologicheskoy konferentsii. Ed. Bondar' Yu. V. et al. Brest, 2016, 300 p. (In Russian)
10. Ordzhonikidze C. G., Demidova T. B., Krysanov E. Yu. Sposoby otsenki tsitogeneticheskogo gomeostaza v prirodnnykh populyatsiyakh zhivotnykh na raznykh etapakh ontogeneza [Evaluation of genetic homeostasis in animals at different stages of ontogenesis in the environment]. *Ontogenez* [Ontogenesis], 2014, vol.45, no. 3, pp. 170-179. (In Russian)
11. Dayev Ye. V., Dukel'skaya A. V., Barabanova L. V. Tsitogeneticheskiye metody indikatsii ekologicheskoy napryazhennosti v vodnykh i nazemnykh biosistemakh [Cytogenetic methods of ecological stress indication in water and terrestrial biosystems]. *Ekologicheskaya genetika* [Ecological genetics], 2014, vol. 12, no. 2, pp. 3-12. (In Russian)
12. Kisurina-Evgenieva O. P., Sutiagina O. I., Onishchenko G. E. Biogenezmikroyader [Micronuclei biogenesis]. *Biokhimiya* [Biochemistry], 2016, vol. 81, no. 5, pp. 612-624. (In Russian)
13. Vergolyas M. R., Goncharuk V. V. Toksicheskoye vliyaniye tyazhelykh metallov na organism gidrobiontov [Toxic effects of heavy metals on the hydrobionts organism]. *Obrazovaniye, zdorov'yei sport* [Journal of Education, Health and Sport], 2016, no. 6, pp. 436-444. (In Russian)
14. Brodsky I. B., Bryantseva S. A., Kovaleva A. M., Uryupova E. F., Gusev S. A., Sergienko V. I., Matishov D. G. Mikroyadra kak marker khromosomnykh izmeneniy kletok [Micronuclei as markers of chromosomal abnormalities in cells]. *Zhurnal fundamental'noy meditsiny i biologii* [Fundamental medicine and biology]. Rostov-on-Don : Rostov state Medical University, 2012, no. 1, pp. 4-9. (In Russian)
15. Ingel F. I. Perspektivy ispol'zovaniya mikroyadernogo testa na limfotsitakh krovi cheloveka, kul'tiviruyemykh v usloviyakh tsitokineticheskogo bloka [Perspectives of micronuclear test in lymphocytes cultivated in cytohenetic block conditions. Part 1 : Cell proliferation]. *Ekologicheskaya genetika* [Ecological genetics], 2006, vol. 4, no. 3, pp. 7-19. (In Russian)

16. Romanova E. B., Ryabinina E. S. Skriningovyy tsitogeneticheskiy metod ucheta mikroyader v krovi prudovykh lyagushek kak indikator sostoyaniya vodnykh biologicheskikh resursov [Screening cytogenetic method for recording micronuclei in the blood of Pelophylax lessonae as state indicator of aquatic biological resources]. *Vestnik Kamchatskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta* [Bulletin of Kamchatka State Technical University], 2019, no. 49, pp. 43-49. (In Russian)
17. Fagr Kh. All., El-Shehawi A. M., Seehy M. A. Micronucleus test in fish genome: A sensitive monitor for aquatic pollution. *African Journal of Biotechnology*, 2008, Vol. 7 (5), pp. 606-612
18. Normann C. A., Moreira J. C., Cardoso V. V. Micronuclei in red blood cells of armored catfish *Hypostomus plecostomus* exposed to potassium dichromate. *African Journal of Biotechnology*, 2008, Vol. 7 (7), pp. 893-896
19. Krysanov E. Yu., Ordzhonikidze K. G. Nekotoryye aspekty tsitogeneticheskogo monitoringa [Certain aspects of cytogenetic monitoring]. *Zhizn' Zemli: mezhdistsiplinarnyy nauchno-prakticheskiy zhurnal* [The life of the Earth: Scientific and Practical Interdisciplinary Journal]. Moscow, MSU, 2018, vol. 40, no. 4, pp. 403-407. (In Russian)
20. Kuzina T. V. Izmeneniya struktury yadra eritrotsitov perifericheskoy krovi promyslovyykh ryb Volgo – Kaspiyskogo kanala [Changes in the structure of the nucleus erythrocytes peripheral blood in fish species Volga-Caspian channel]. *Vestnik Moskovskogo gosudarstvennogo oblastnogo universiteta. Seriya Yestestvennyye nauki* [Bulletin of the Moscow Region State University. Series: Natural Sciences]. Moscow, 2011, no. 2, pp. 50-57. (In Russian)
21. Davydov O. N., Temnikhanov Yu. D., Kurovskaya L. Ya. *Patologiya krovi ryb* [Pathology of fish blood]. Kiev, Firm "INKOS" Publ., 2005. 212 p. (In Russian)
22. Zhuleva L. Yu., Dubinin N. P. Ispol'zovaniye mikroyadernogo testa dlya otsenki ekologicheskoy obstanovki v rayonakh Astrakhanskoy oblasti [Use of the micronucleus test for ecological monitoring in Astrakhan' Oblast']. *Genetika* [Genetics], 1994, vol. 30, no. 7, pp. 999-1004 (In Russian)
23. Pikulik M. M. *Zemnovodnye Belorussii* [Amphibians of Belarus]. Minsk, Nayka i Tekhnika Publ., 1985, 191 p. (In Russian)
24. Romanova E. B., Volkova O. E., Tikhonova M. I. Otsenka sostoyaniya populyatsiy zelenykh lyagushek roda *Rana* po kompleksu pokazateley gomeostaza [Assessment of the status of populations of green frogs of the genus *Rana* by a set of indicators of homeostasis]. *Vestnik Nizhegorodskogo Universiteta im. N.I. Lobachevskogo* [Vestnik of Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod], 2011, no. 2(2), pp. 119-124. (In Russian)
25. Spirina E. V. *Amfibii kak bioindikatsionnaya test-sistema dlya ekologicheskoy otsenki vodnoy sredy obitaniya* [Amphibians as a bioindication test system for environmental assessment of the aquatic environment]. Abstract of Ph. D. thesis. Ulianovsk, 2007. 22 p. (In Russian)

Received 15 September 2020